

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

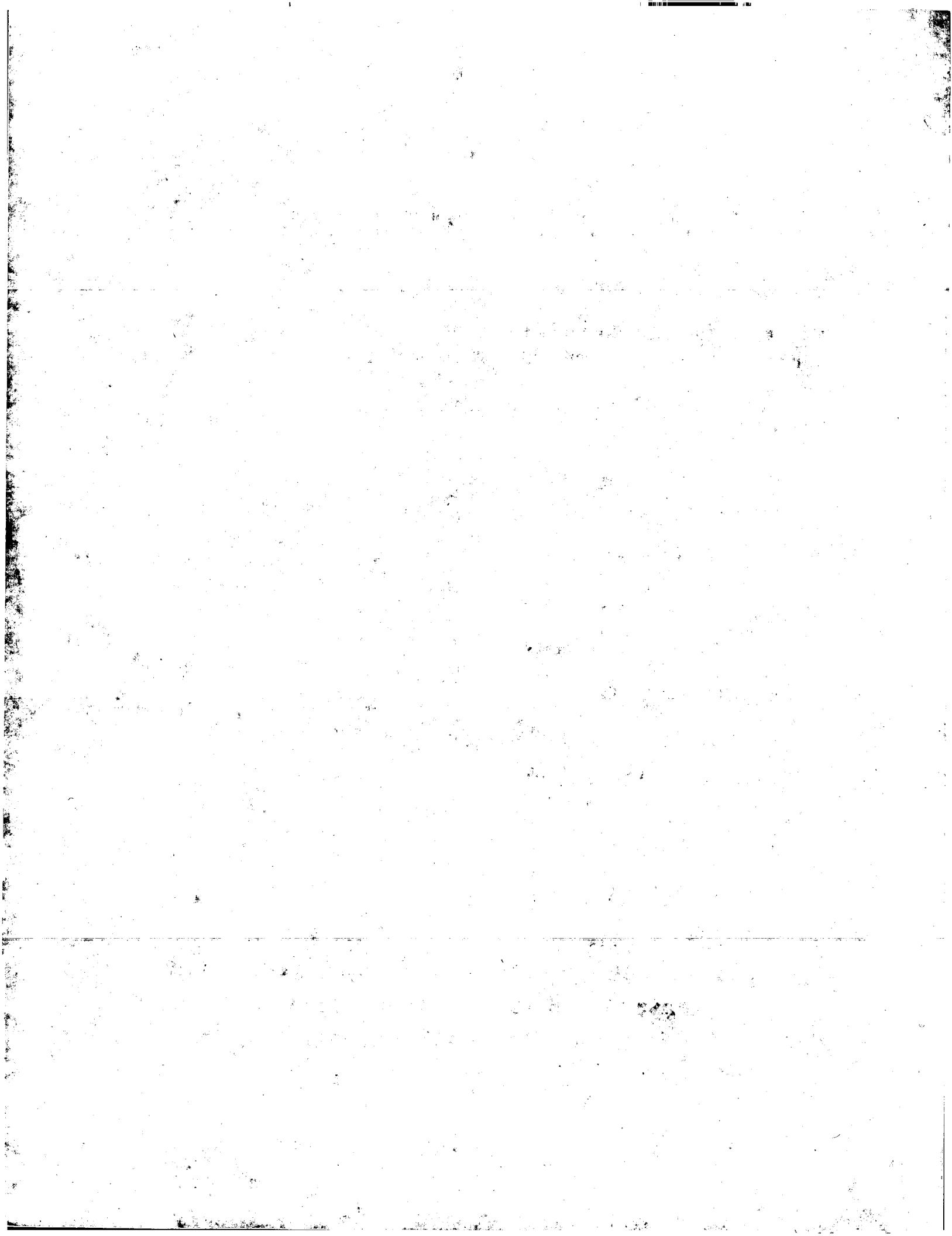
Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**





BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 22 MARS 1999

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Martine PLANCHE', is enclosed in a decorative oval border.

Martine PLANCHE

SIEGE
 INSTITUT
 NATIONAL DE
 LA PROPRIETE
 INDUSTRIELLE

26 bis, rue de Saint Petersbourg
 75800 PARIS Cedex 08
 Téléphone : 01 53 04 53 04
 Télécopie : 01 42 93 59 30

NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

BREVET D'INVENTION, CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle-Livre VI


N° 55-1328

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

Confirmation d'un dépôt par télécopie

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES

27 MAR 1998

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

98 03814 -

DÉPARTEMENT DE DÉPÔT

DATE DE DÉPÔT

27 MARS 1998

1

NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉECABINET REGIMBEAU
26, Avenue Kléber
75116 PARIS

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

 brevet d'invention demande divisionnaire certificat d'utilité transformation d'une demande
de brevet européen brevet d'invention certificat d'utilité n°

Établissement du rapport de recherche

 différé immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance

n° du pouvoir permanent références du correspondant téléphone

236556 D17054 MIP

01 45 00 92 02

date

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

Utilisation de conjugués P40 actifs par voie nasale

3 DEMANDEUR (S)

n° SIREN

code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

PIERRE FABRE MEDICAMENT

Forme juridique

SOCIETE ANONYME

Nationalité (s) Française

Adresse (s) complète (s)

45, place Abel Gance 92100 BOULOGNE

Pays

FR

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs

 oui non

Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES

 requise pour la 1ère fois requise antérieurement au dépôt ; joindre copie de la décision d'admission

6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 DIVISIONS antérieures à la présente demande n°

date

n°

date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
(nom et qualité du signataire n° d'inscription)

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION

SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI

DIVISION ADMINISTRATIVE DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Pétersbourg
75800 Paris Cédex 08
Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

BREVET D'INVENTION, CERTIFICAT D'UTILITÉ

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

9803874

TITRE DE L'INVENTION : Utilisation de conjugués P40 actifs par voie nasale

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

PIERRE FABRE MEDICAMENT
45, place Abel Gance 92100 BOULOGNE

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

ANDREONI Christine
6, rue des Fusains
38280 Villette d'Anthon, FR

RAULY Isabelle
9 bis, allée Boussac
81710 Saix, FR

N'GUYEN Thien
7, les petits Hutins
Lathoy
74160 Saint Julien en
Genevois, FR

HAEUW Jean-François
les jardins de l'Atrium
8, avenue de Ternier
74160 Saint Julien en
Genevois, FR

BAUSSANT Thierry
35, rue Jean Jaurès
01200 Bellegarde, FR

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

27 mars 1998

M. François

CABINET REGIMBEAU

DOCUMENT COMPORTANT DES MODIFICATIONS

Un changement apporté à la rédaction des revendications d'origine, sauf si celui-ci découle des dispositions de l'article R.612-36 du code de la Propriété Intellectuelle, est signalé par la mention «R.M.» (revendications modifiées).

ORIGINAL

1

5 La présente invention concerne l'obtention de préparations immunisantes qui soient efficaces lors d'une administration par voie nasale. Elle se rapporte donc à l'utilisation de protéines porteuses susceptibles d'améliorer la réponse immunitaire à un haptène, lorsque le
10 conjugué haptène-protéine porteuse est administré par voie nasale.

L'utilisation de vaccin par voie orale ou par voie nasale aurait une grande influence sur l'éradication de germes pathogènes. En effet, toute modification d'un vaccin
15 lui permettant d'être utilisé avec une plus grande flexibilité (thermostabilité, distribution sans seringue,...) aurait pour conséquence une vaccination plus efficace et plus étendue. D'autre part, l'immunisation par les voies muqueuses permet d'induire une immunité locale constituant
20 la première barrière à l'invasion par un micro-organisme.

Actuellement, les vaccins oraux sur le marché ne concernent que des vecteurs vivants atténués ou recombinés :

- vaccin oral tétravalent contre la polio,
- 25 - vaccin oral contre la fièvre typhoïde.

Des approches de vaccination par voie nasale ou orale sont déjà décrites dans la littérature.

Des essais ont ainsi été effectués sur des administrations mucosales de la PspA qui correspond à la
30 protéine de surface A de Pneumocoque (Briles D.E., brevet EP 682 950), sur les filaments d'hémagglutinine (Capron A., brevet FR 2 718 750 ; Kimura A., brevet EP 471 177 ; Shahin R.D., brevet US 7532327), sur un fragment de la toxine tétanique (Dougan G., brevet WO 93/21950), sur la choléra
35 toxin B (CTB).

Une protéine de la membrane externe de *Neisseria meningitidis* est utilisée mélangée à l'haptène en tant

qu'adjuvant pour une immunisation par voie nasale (Van de Verg L.L., Infection and immunity, 1996, 64 : 5263-5268).

De manière inattendue, la Demanderesse a maintenant trouvé qu'une protéine de membrane provenant d'une autre bactérie permet, lorsqu'elle est administrée conjointement avec un antigène par la voie nasale, d'induire une réponse immunitaire d'intensité et de qualité satisfaisante pour l'obtention d'un vaccin.

C'est pourquoi la présente invention a pour objet l'utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane OmpA d'entérobactérie pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à être administrée par voie nasale, pour améliorer l'immunité d'un mammifère vis-à-vis d'un antigène ou d'un haptène.

Dans la présente description, on entend désigner par OmpA les protéines de la membrane externe de type A (OmpA pour "Outer membrane protein A").

L'invention a également pour objet l'utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane de Klebsiella pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à être administrée par voie nasale, pour améliorer l'immunité d'un mammifère vis-à-vis d'un antigène ou d'un haptène.

De préférence, la protéine de membrane est une protéine OmpA de Klebsiella pneumoniae.

Avantageusement, ledit fragment de la protéine de membrane OmpA d'entérobactérie ou de la protéine de membrane Klebsiella selon l'invention est obtenu par voie recombinante.

De manière très avantageuse, ladite protéine de membrane ou son fragment obtenu par voie recombinante est, après extraction, renaturée en présence de détergent choisi parmi le Zwittergent 3-14, le Zwittergent 3-12 et l'octylglycopyrannoside, de préférence en présence de Zwittergent 3-14 à une concentration comprise entre 0,05 % et 2 % (p/v), de manière très préférée à une concentration voisine de 0,1 %.

La demande WO 96/14415 a montré que la protéine membranaire majeure de *Klebsiella pneumoniae*, OmpA baptisée P40, couplée à des antigènes sous unitaires peptidiques est très immunogénique par voie systémique. La protéine P40 recombinante, exprimée chez *E. Coli* sous forme de corps d'inclusion, est baptisée rP40.

Dans le cadre de la présente invention, une protéine particulièrement adaptée comporte la séquence SEQ ID n° 1.

La Demanderesse a démontré qu'une réponse anticorps anti-P40 est retrouvée chez tous les adultes, l'entérobactérie *Klebsiella pneumoniae* étant un pathogène très répandu. Cette sensibilisation est favorable à une augmentation de la réponse anticorps dirigée contre un antigène ou un haptène qui est administré couplé à la protéine porteuse P40. L'administration s'effectue par voie nasale en absence d'adjuvant.

Ledit antigène ou haptène selon l'invention peut être choisi dans le groupe comprenant les protéines, les peptides, les polysaccharides, les oligosaccharides et les acides nucléiques. Avantageusement, il est d'origine bactérienne ou virale.

La présente invention est ainsi appropriée pour la préparation de vaccin dirigé contre tout micro-organisme responsable de pathologies des voies aériennes tel que par exemple les micro-organismes choisis parmi le VRS, le para influenzae virus (PIV), l'influenza virus, l'hantavirus, les streptocoques, les pneumococques et les méningocoques.

L'antigène ou l'haptène selon l'invention comprendra au moins un fragment dudit micro-organisme, tel qu'un fragment protéique, que l'homme de l'art saura déterminer pour sa capacité à conférer l'immunité recherchée par des techniques standards telles que celles décrites dans les exemples ci-après.

En particulier, la présente invention est appropriée pour la préparation de vaccin dirigé contre le VRS (ou virus respiratoire syncytial), notamment humain ou bovin. Dans ce cas, l'antigène ou l'haptène selon l'invention

comprend au moins un fragment protéique du virus VRS, et notamment au moins un fragment de la protéine G du VRS.

Les séquences de tels fragments ont été notamment décrites dans la demande WO 95/27787.

5 De préférence, lesdits fragments protéiques du virus VRS sont choisis parmi les fragments ayant pour séquences d'acides aminés les séquences SEQ ID n° 2 à SEQ ID n° 73.

Des séquences convenant à la préparation d'un vaccin selon l'invention sont les séquences SEQ ID n° 2 à SEQ ID 10 n° 73.

Les conjugués chimiques issus d'un couplage de peptides à au moins un fragment d'une protéine membranaire de Klebsiella, telle que la rP40, donnent de bons résultats, et une évaluation de la réponse immunitaire 15 montre des réponses anticorps contre ces peptides très fortes après pré-sensibilisation à Klebsiella pneumoniae.

Avantageusement, le fragment protéique provenant de protéine de membrane OmpA d'entérobactéries ou de protéine de membrane de Klebsiella est couplé de façon covalente 20 avec l'antigène ou l'haptène, tel qu'un fragment protéique du VRS.

L'invention comprend également l'utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane OmpA d'entérobactéries ou d'une protéine de membrane de Klebsiella selon 25 l'invention, caractérisée en ce que ledit fragment est couplé de façon covalente avec ledit antigène ou haptène.

Selon l'invention, il est possible d'introduire un ou plusieurs éléments de liaison, notamment des acides aminés pour faciliter les réactions de couplage entre le fragment 30 de protéine de membrane et l'antigène ou l'haptène.

Le couplage covalent de l'antigène ou l'haptène selon l'invention peut être réalisé à l'extrémité N- ou C-terminale du fragment de la protéine de membrane selon l'invention. Les réactifs bifonctionnels permettant ce 35 couplage seront déterminés en fonction de l'extrémité du fragment de la protéine de membrane choisie pour effectuer le couplage et de la nature de l'antigène ou l'haptène à

coupler. Ces techniques de couplage sont bien connues de l'homme de l'art.

Les conjugués issus d'un couplage de peptides à au moins un fragment d'une protéine membranaire OmpA 5 d'entérobactéries ou d'une protéine membranaire de Klebsiella, peuvent être préparés par recombinaison génétique. La protéine hybride (conjugué) peut en effet être produite par des techniques d'ADN recombinant par insertion ou addition à la séquence d'ADN codant pour le 10 fragment de protéine de membrane, d'une séquence codant pour le ou les peptides antigènes ou haptènes. Ces techniques de préparation de protéine hybride par recombinaison génétique sont bien connues de l'homme de l'art (cf. par exemple S.C. MAKRIDES, 1996, 15 Microbiologicals Reviews, 60, 3, 512-538) et ne seront pas développées dans la présente description.

Ainsi, l'invention comprend également l'utilisation, selon l'invention, caractérisée en ce que la protéine hybride, obtenue après couplage entre le fragment d'une 20 protéine de membrane et l'antigène ou l'haptène, de type protéique, est préparée par recombinaison génétique.

La Demanderesse a également montré qu'en absence de sensibilisation à *Klebsiella pneumoniae*, l'administration d'un haptène couplé à au moins un fragment d'une protéine membranaire, telle que la protéine rP40, par voie nasale en 25 absence d'adjuvant induisait une réponse anticorps anti-haptène.

L'invention concerne l'utilisation, selon l'invention, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique 30 contient un fragment d'une protéine de membrane couplé avec un antigène ou un haptène selon l'invention, ou une cellule hôte transformée capable d'exprimer une protéine recombinante hybride contenant un fragment de protéine de membrane couplé avec l'antigène ou l'haptène selon 35 l'invention, notamment en absence d'adjuvant. Parmi les cellules hôtes transformées capables d'exprimer ladite protéine hybride, on préfère les bactéries à gram négatifs

telles que *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* type K12 couramment utilisée dans la fermentation ou *E. coli* transformée par un plasmide vecteur d'expression renfermant un promoteur fort tel que l'opéron du promoteur tryptophane (trp). Sont également préférées, les bactéries à gram positifs telles que les staphylocoques non pathogènes, *S. carnosus* et *S. xylosus*, dans la mesure où ces bactéries ne produisent pas de LPS (lipopolysaccharides) à la surface membranaire. Ces staphylocoques peuvent être transfectés par des vecteurs d'expression renfermant des promoteurs tels que le trp, ou le signal de sécrétion de Lipase ou encore le signal de sécrétion de la protéine A ou encore le signal du promoteur de l'OmpA de *Klebsiella pneumoniae*.

Enfin, l'invention concerne un procédé de préparation d'une protéine ou un de ses fragments par voie recombinante, caractérisé en ce que la protéine ou son fragment est, après extraction, renaturée en présence d'une solution contenant un détergent choisi parmi le Zwittergent 3-14, le Zwittergent 3-12 et l'octylglucopyranoside, et en ce que ladite protéine recombinante n'est pas l'intéféron β .

De préférence, ladite protéine est une protéine de membrane d'entérobactérie, notamment de type OmpA. De manière très préférée, ladite protéine est une OmpA de *Klebsiella pneumoniae*.

Dans le procédé selon l'invention, le Zwittergent 3-14 sera de préférence à une concentration comprise entre 0,05 % et 2 % de manière plus préférée voisine de 0,1 %.

Les exemples qui suivent sont destinés à illustrer l'invention sans aucunement en limiter la portée.

Dans ces exemples, on se référera aux figures suivantes :

Figure 1 : Analyse par électrophorèse SDS-PAGE de la protéine rP40 après purification.

A : révélation au bleu de Coomassie

- piste 1 : lot 1, 2 µg
- piste 2 : lot 1, 10 µg
- piste 3 : lot 2, 2 µg
- piste 4 : lot 2, 10 µg
- 5 - piste 5 : lot 3, 2 µg
- piste 6 : lot 3, 10 µg

B : immunoblot et révélation à l'aide d'un sérum polyclonal de lapin anti-P40

- std : standard de masse moléculaire
- 10 - piste 1 : rP40 dénaturée, 100 ng
- piste 2 : rP40 native, 100 ng.

Figure 2 : Répartition des patients selon la D.O. (Densité Optique) correspondant aux anticorps anti-P40, mesurés par ELISA.

15 Figure 3 : Réponse anticorps anti-G1'.

Figure 4 : Réponse anticorps anti-rP40.

Figure 5 : Réponse anticorps anti-G1' de type IgA.

Figure 6 : Isotypage des immunoglobulines anti-G1' obtenues en réponse secondaire.

20 Figure 7 : Isotypage des immunoglobulines anti-G1' obtenues en réponse tertiaire.

Figure 8 : Réponse anticorps sériques anti-G1' de type IgG totales.

25 Figure 9 : Isotypage des immunoglobulines anti-G1' sériques après trois immunisations.

Figure 10 : Isotypage des immunoglobulines anti-G1' des lavages broncho-alvéolaires après trois immunisations.

Exemple 1 : clonage de rP40

30 Clonage du gène rP40 :

Le gène codant pour rP40 a été obtenu par amplification par PCR (Réaction en Chaîne à la Polymérase) à partir de l'ADN chromosomal de la souche *Klebsiella pneumoniae* IP I145 (décrit dans le brevet WO 96/14415).

35 Après identification par séquençage ADN, le fragment correspondant à rP40 est cloné dans divers vecteurs

d'expression, en particulier celui sous le contrôle du promoteur de l'opéron trp, en amont de 9 acides aminés du peptide leader (MKAIFVLNA). La séquence peptidique de rP40 est représentée dans la liste des séquences par la séquence
 5 SEQ ID n° 1. Dans différentes souches *E.coli* K12, la protéine rP40 est produite sous forme de corps d'inclusion avec un rendement important (> 10 %, g protéines / g de biomasse sèche).

Fermentation de protéines de fusion rP40 :

10 Dans un érlenmeyer contenant 250 ml de milieu TSB (Tryptic Soy Broth, Difco), avec de l'Ampicilline (100 µg/ml, Sigma) et de la Tétracycline (8 µg/ml, Sigma), on inocule avec *E. coli* K12 transformé avec le plasmide pvaLP40. On incube pendant 16 heures à T° = 37°C sous agitation. 200 ml de cette culture sont inoculés dans un fermenteur (CHEMAP CF3000, ALFA LAVAL) contenant 2 litres de milieu de culture. Le milieu contient (g/l) : glycérol, 5 ; sulfate d'ammonium, 2,6 ; dihydro-génophosphate de potassium, 3 ; hydrogénophosphate dipotassium, 2 ; citrate de sodium 0,5 ; extrait de levure, 1 ; Ampicilline, 0,1 ; Tétracycline 0,008 ; Thiamine, 0,07 ; sulfate de magnésium, 1 et 1 ml/l de solution de traces éléments et 0,65 ml/l de solution de vitamines. Les paramètres contrôlés durant la fermentation sont : le pH, l'agitation, la température, le taux d'oxygénéation, l'alimentation de sources combinées (glycérol ou glucose). Le pH est régulé à 7,0. La température est fixée à 37°C. La croissance est contrôlée en alimentant en glycérol (87 %) à un débit constant (12 ml/h) pour maintenir le signal de tension de l'oxygène dissous à 30 %. Lorsque la turbidité de la culture (mesurée à 580 nm) atteint la valeur de 80 (après environ 24 heures de culture), la production des protéines est induite par addition de l'acide indole acrylique (IAA) à la concentration finale de 25 mg/l. Environ 4 heures après induction, les cellules sont récoltées par centrifugation. La quantité de biomasse obtenue est d'environ 200 g, exprimée en biomasse humide.

Exemple 2 : extraction et purification de rP40**Matériel et méthodes****Extraction de la rP40**

Après centrifugation du bouillon de culture (4000 rpm, 5 min, 4°C), les cellules sont remises en suspension dans un tampon Tris-HCl 25 mM pH 8,5. Un traitement par le lysozyme (0,5 g/l, 1 heure / température ambiante / agitation douce) permet la libération des corps d'inclusion.

Le culot de corps d'inclusion obtenu par centrifugation (25 min à 10 000 g à 4°C) est repris dans un tampon Tris-HCl 25 mM pH 8,5 contenant 5 mM MgCl₂, puis centrifugé (15 min à 10 000 g).

La dénaturation de la protéine est obtenue par incubation des corps d'inclusion à 37°C pendant 2 heures dans un tampon Tris-HCl 25 mM pH 8,5 contenant 7 M urée (agent dénaturant) et 10 mM dithiothréitol (réduction des ponts disulfure). Une centrifugation (15 min à 10 000 g) permet d'éliminer la partie insoluble des corps d'inclusion.

Après dilution par 13 volumes d'un tampon Tris-HCl 25 mM pH 8,5 contenant du NaCl (8,76 g/l) et du Zwittergent 3-14 (0,1 %, p/v), le mélange est laissé pendant une nuit à température ambiante sous agitation au contact de l'air (renaturation de la protéine par dilution et réoxydation des ponts disulfure).

Purification de la protéine rP40**Etape de chromatographie d'échange d'anions.**

Après une nouvelle centrifugation, l'échantillon est dialysé contre un tampon Tris-HCl 25 mM pH 8,5 contenant 0,1 % Zwittergent 3-14 (100 volumes de tampon) pendant une nuit à 4°C.

Le dialysat est déposé sur une colonne contenant un support de type échangeur d'anions forts (gel Biorad Macro Prep High Q) équilibrée dans le tampon décrit ci-dessus à un débit linéaire de 15 cm/h. Les protéines sont détectées à 280 nm. La protéine rP40 est éluée, avec un débit

linéaire de 60 cm/h, pour une concentration de 0,6 M en NaCl dans le tampon Tris/HCl 25 mM pH 8,5 ; 0,1 % Zwittergent 3-14.

Etape de chromatographie d'échange de cations.

5 Les fractions contenant la protéine rP40 sont rassemblées et concentrées par ultrafiltration à l'aide d'un système de cellule à agitation Amicon utilisé avec une membrane Diaflo de type YM10 (seuil de coupure 10 kDa) pour des volumes de l'ordre de 100 ml, ou à l'aide d'un système
10 de filtration à flux tangentiel Minitan Millipore utilisé avec des plaques de membranes possédant un seuil de coupure 10 kDa pour des volumes supérieurs. La fraction ainsi concentrée est dialysée pendant une nuit à 4°C contre un tampon citrate 20 mM pH 3,0, à 0,1 % de Zwittergent 3-14.

15 Le dialysat est déposé sur une colonne contenant un support de type échangeur de cations forts (gel Biorad Macro Prep High S) équilibrée dans le tampon citrate 20 mM pH 3,0, à 0,1 % de Zwittergent 3-14. La protéine rP40 est éluee (vitesse 61 cm/h) pour une concentration 0,7 M en NaCl. Les fractions contenant la rP40 sont rassemblées et concentrées comme décrit précédemment.

Résultats

A partir d'une culture de 1 litre, un cycle de dénaturation-renaturation permet d'obtenir 300 mg de protéine (estimation par dosage selon la méthode de Lowry).
25 75 mg de rP40 sont purifiés après les deux étapes chromatographiques.

30 Comme précédemment, la protéine rP40 est concentrée après purification afin d'atteindre une concentration finale comprise entre 5 et 10 mg/ml. Les profils électrophorétiques montrent un degré de pureté de l'ordre de 95 % (figure 1A). Après immunoblot la protéine est spécifiquement reconnue par un anticorps monoclonal anti-P40 naturelle obtenu chez la souris (figure 1B).

35 L'état de la protéine est suivi par SDS-PAGE. Selon sa forme, dénaturée ou native, la protéine P40 extraite de la membrane de Klebsiella pneumoniae possède un comportement

électrophorétique (migration) caractéristique. La forme native (structure en feuillets β) présente en effet une masse moléculaire plus faible que la forme dénaturée (structure en hélices α) sous l'action d'un agent 5 dénaturant, tel que l'urée ou le chlorhydrate de guanidine, ou par chauffage à 100°C en présence de SDS (figure 1B). La protéine rP40 n'est pas correctement renaturée en fin de renaturation, que celle-ci soit réalisée en absence ou en présence de 0,1 % (p/v) Zwittergent 3-14. Par contre une 10 renaturation totale est obtenue après dialyse contre un tampon Tris/HCl 25 mM pH 8,5 contenant 0,1 % (p/v) Zwittergent 3-14. Toutefois, il faut noter que cette renaturation n'est obtenue que lorsque l'étape de dilution et le traitement à température ambiante sont réalisés eux- 15 mêmes en présence de Zwittergent 3-14 (résultats négatifs en absence de détergent)..

Exemple 3 : couplage du peptide G1' sur rP40

Matériel et méthodes

20 Le peptide G1' est un peptide synthétique de 15 acides aminés, dont la séquence est la suivante :

N₁SIDSNNPTOWAISKC₁₅C

Sans le résidu Cys (Cystéine) ajouté en position C-terminale, ce peptide (partie 1-14) correspond à la partie 25 174-187 de la protéine G du virus respiratoire syncytial et présente, par rapport au peptide natif, deux modifications majeures qui sont :

- le remplacement en position 13 du résidu Cys par un résidu Ser (Sérine),
- 30 - le remplacement en positions 3 et 9 des résidus Cys, formant un pont disulfure, par respectivement des résidus Asp (acide aspartique) et Orn (Ornithine) formant un pont de type lactame.

35 Ces modifications sont introduites dans le but d'éliminer les résidus Cys du peptide natif afin de pouvoir réaliser un couplage univoque de ce dernier sur la protéine

grâce au résidu Cys introduit en position C-terminale, tout en maintenant la structure du peptide à l'aide de l'introduction d'un pont lactame.

Le couplage du peptide sur la protéine est réalisé à l'aide du réactif BHA ou bromo-N-hydroxysuccinimide acétate (Svenson et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 1347, Bernatowicz and Matsueda, 1986, Anal. Biochem. 155, 95). Ce réactif hétérobifonctionnel permet une activation des résidus Lys (Lysine) de la protéine par bromoacétylation, puis un couplage du peptide par le groupement thiol libre porté par le résidu Cys.

Dans un premier temps, la protéine rP40 est activée par le BHA. La rP40 est dialysée contre un tampon phosphate 0,1 M pH 7 contenant 0,1 % Zwittergent 3-14 pendant 24 heures à + 4°C. Après dialyse, la concentration est ajustée à 5 mg/ml à l'aide du même tampon avant addition du BHA à raison de 1,2 mg (50 µl) / mg de rP40.

L'ensemble est placé à l'obscurité pendant une heure sous agitation et à température ambiante.

La rP40 activée est ensuite dessalée par chromatographie de gel-filtration (élution par le tampon précédemment cité). Les fractions contenant la protéine bromoacétylée sont rassemblées.

Pour le couplage, le peptide (10 mg/ml en tampon phosphate 0,1 M pH 7 contenant 0,1 % Zwittergent 3-14) est additionné à la protéine activée à raison de 0,4 mg / mg de protéine. Après saturation sous courant d'azote, le tube est placé à nouveau à l'obscurité pendant 2 heures sous agitation et à température ambiante.

Le peptide non fixé peut être éliminé à l'aide d'une étape de dialyse ou de chromatographie de tamisage moléculaire.

Résultats

Le conjugué obtenu est caractérisé par dosage de protéine (méthode BCA ou LOWRY) et par électrophorèse SDS-PAGE. Le taux de couplage du peptide sur la protéine est estimé par dosage du résidu carboxyméthylcystéine : le

dosage des acides aminés libérés par hydrolyse (HCl 6N) est réalisé par HPLC après dérivaturation à l'aide du PITC (méthode Pico-Tag, Waters).

Le taux de couplage déterminé par cette méthode est
5 d'environ 10 peptides G1'/mole de rP40.

Exemple 4 : Immunité naturelle chez l'adulte

Des sérum humains issus d'une étude clinique sont analysés par dosage ELISA pour déterminer la présence
10 d'anticorps anti-P40.

Les résultats sont représentés sur la figure 2.

Parmi 113 sérum testés après dilution au 1/400, 110 sérum donnent un signal colorimétrique révélant les IgG anti-P40. Il existe chez tous les patients des anticorps
15 anti-P40 circulant avec des taux plus ou moins élevés selon le patient considéré.

Exemple 5 : Réponse anticorps anti-G1' après des sensibilisations et des immunisations rapprochées

20 Des souris BALB/c ont été ou non sensibilisées 2 fois avec une souche de *Klebsiella pneumoniae* I145 afin de reproduire la séropositivité retrouvée chez l'homme. Les souris sont par la suite immunisées par voie nasale en l'absence d'adjuvant 7 jours après la sensibilisation.
25 Cette immunisation est effectuée avec un faible taux d'antigène, les souris recevant 10 µg d'équivalent G1' couplé à rP40. Les souris reçoivent un rappel 10 et 20 jours après la première immunisation. Une ponction est pratiquée au sinus rétro-orbital des souris 9 jours après
30 la première immunisation et 10 jours après chaque rappel (réponses secondaire et tertiaire). Les anticorps anti-G1' (Figure 3) et antiporteur (Figure 4) sériques sont dosés par méthode ELISA.

35 **5.1 Dosage des IgG sériques anti-G1'**

Les résultats sont représentés sur la figure 3.

En réponse primaire, les souris présensibilisées avec *Klebsiella pneumoniae* et immunisées avec rP40-G1' sont les seules à produire des anticorps anti-G1'.

Le taux d'anticorps anti-G1' retrouvé chez les souris présensibilisées avec *Klebsiella pneumoniae* et immunisées avec rP40-G1' est augmenté après une seconde immunisation. En absence de présensibilisation, une seconde immunisation en présence des conjugués rP40-G1' induit une réponse anticorps anti-G1'.

Après trois immunisations, la réponse anticorps anti-G1' est augmentée chez les souris présensibilisées ou non.

5.2 Dosage des IgG sériques anti-rP40

Les résultats sont représentés sur la figure 4.

La réponse anticorps anti-rP40 montre que les souris ont été sensibilisées à *Klebsiella pneumoniae* de façon identique quel que soit le lot considéré.

L'immunisation en présence de conjugués rP40-G1' augmente faiblement la réponse anticorps anti-rP40.

5.3 Dosage des IgA sériques anti-G1'

Dans un second temps nous avons dosé la réponse anticorps anti-G1' de type IgA sérique : immunoglobuline caractéristique d'immunisations effectuées par les voies muqueuses (nasales ou orales).

Les résultats sont représentés sur la figure 5.

Après une seule immunisation, les IgA ne sont pas détectées. Après deux immunisations, des IgA anti-G1' sont détectées essentiellement chez des souris présensibilisées à *Klebsiella pneumoniae* et immunisées avec rP40-G1'. Cette réponse est augmentée par la troisième immunisation. En absence de sensibilisation des IgA anti-G1' sont détectées chez des souris après deux immunisations avec des conjugués rP40-G1'. Ce taux d'IgA est augmenté par la troisième immunisation.

5.4 Isotypage des immunoglobulines sériques anti-G1'

Deux types de réponses peuvent être observées, Th1 et Th2. Ces réponses diffèrent par le profil de cytokines

produites et par leurs fonctions dans la réponse immunitaire. Les IgG1 sont caractéristiques d'une réponse de type Th2 et les IgG2a d'une réponse Th1.

Un profil mixte de réponse Th1 et Th2 est retrouvé 5 uniquement chez les souris immunisées avec les conjugués rP40-G1' qu'elles soient ou non présensibilisées avec Klebsiella pneumoniae (Figure 6).

Après trois immunisations (Figure 7), le profil reste mixte chez les souris immunisées avec les conjugués rP40-G1'.
10

Exemple 6 : Réponse anticorps anti-G1' après des sensibilisations et des immunisations éloignées.

Par rapport au protocole précédent, la première 15 immunisation est séparée de la dernière sensibilisation par une période de 3 semaines au lieu d'une semaine. Les anticorps anti-G1' sont dosés dans les sérums et en réponse tertiaire dans les lavages broncho-alvéolaires par méthode ELISA.

20 6.1 Dosage des IgG sériques anti-G1'

Comme on le voit sur la figure 8, 7 jours après la première immunisation des anticorps sériques anti-G1' de type IgG totales sont détectés chez les souris présensibilisées à Klebsiella pneumoniae et immunisées en 25 présence des conjugués rP40-G1'. Cette réponse anticorps est augmentée par les deux autres immunisations.

6.2 Isotypage des immunooglobulines sériques

Les résultats sont représentés sur la figure 9.

Dans ce cas nous observons également une réponse 30 mixte, nous obtenons en effet le même titre en IgG1 qu'en IgG2a (Figure 9). De plus, un taux élevé d'IgA est retrouvé chez les souris présensibilisées à Klebsiella pneumoniae et immunisées trois semaines après en présence des conjugués rP40-G1'.

6.3 Isotypage des immunoglobulines des lavages broncho-alvéolaires

Dans les lavages broncho-alvéolaires, on retrouve les 4 types d'immunoglobulines uniquement chez les souris sensibilisées à *Klebsiella pneumoniae* et immunisées 3 fois en présence des conjugués rP40-G1', (Figure 10).

LISTE DE SÉQUENCES

Information pour la SEQ ID N° : 1 rP40

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

- 5 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 344 acides aminés, 1032 nucléotides
 NOMBRE DE BRINS : simple
 CONFIGURATION : linéaire
 TYPE DE MOLECULE : protéine

	1	12
10	N - Met Lys Ala Ile Phe Val Leu Asn Ala Ala Pro Lys	
	5' - ATG AAA GCA ATT TTC GTC CTG AAT GCG GCT CCG AAA	
		30
	Asp Asn Thr Trp Tyr Ala Gly Gly Lys Leu Gly Trp Ser Gln Tyr His Asp Thr	
	GAT AAC ACC TGG TAT GCA GGT GGT AAA CTG GGT TGG TCC CAG TAT CAC GAC ACC	
15		48
	Gly Phe Tyr Gly Asn Gly Phe Gln Asn Asn Gln Pro Thr Arg Asn Asp Gln	
	GGT TTC TAC GGT AAC GGT TTC CAG AAC AAC GGT CCG ACC CGT AAC GAT CAG	
		66
	Leu Gly Ala Gly Ala Phe Gly Gly Tyr Gln Val Asn Pro Tyr Leu Gly Phe Glu	
20	CTT GGT GCT GGT GCG TTC GGT TAC CAG GAT AAC CCG TAC CTC GGT TTC GAA	
		84
	Met Gly Tyr Asp Trp Leu Gly Arg Met Ala Tyr Lys Gly Ser Val Asp Asn Gly	
	ATG GGT TAT GAC TGG CTG GGC CGT ATG GCA TAT AAA GGC AGC GAT GAC AAC GGT	
		102
25	Ala Phe Lys Ala Gln Gly Val Gln Leu Thr Ala Lys Leu Gly Tyr Pro Ile Thr	
	GCT TTC AAA GCT CAG GGC GTT CAG CTG ACC GCT AAA CTG GGT TAC CCG ATC ACT	
		120
	Asp Asp Leu Asp Ile Tyr Thr Arg Leu Gly Gly Met Val Trp Arg Ala Asp Ser	
	GAC GAT CTG GAC ATC TAC ACC CGT CTG GGC GGC ATG GTT TGG CGC GCT GAC TCC	
30		138
	Lys Gly Asn Tyr Ala Ser Thr Gly Val Ser Arg Ser Glu His Asp Thr Gly Val	
	AAA GGC AAC TAC GCT TCT ACC GGC GTT TCC CGT AGC GAA CAC GAC ACT GGC GTT	
		156
	Ser Pro Val Phe Ala Gly Gly Val Glu Trp Ala Val Thr Arg Asp Ile Ala Thr	
35	TCC CCA GTC TTT GCT CGC GGC GTC GAG TGG GCT GTT ACT CGT GAC ATC GCT ACC	

174

Arg Leu Glu Tyr Gln Trp Val Asn Asn Ile Gly Asp Ala Gly Thr Val Gly Thr
 CGT CTC GAA TAC CAG TGG GTT AAC AAC ATC GGC GAC GCG GGC ACT GTG CGT ACC

192

5 Arg Pro Asp Asn Gly Met Leu Ser Leu Gly Val Ser Tyr Arg Phe Gly Gln Glu
 CGT CCT GAT AAC GGC ATG CTG AGC CTC GGC GTT TCC TAC CGC TTC GGT CAG GAA

210

Asp Ala Ala Pro Val Val Ala Pro Ala Pro Ala Pro Glu Val Ala Thr
 GAT GCT GCA CGG GTT GTT GCT CGG GCT CGG GCT CGG GAA GTG GCT ACC

10 228

Lys His Phe Thr Leu Lys Ser Asp Val Leu Phe Asn Phe Asn Lys Ala Thr Leu
 AAG CAC TTC ACC CTG AAG TCT GAC GTT CTC TTC AAC TTC AAC AAA GCT ACC CTG

246

15 Lys Pro Glu Gly Gln Gln Ala Leu Asp Gln Leu Tyr Thr Gln Leu Ser Asn Met
 AAA CCG GAA GGT CAG CAG GCT CTG GAT CAG CTG TAC ACT CAG CTG AGC AAC ATG

264

Asp Pro Lys Asp Gly Ser Ala Val Val Leu Gly Tyr Thr Asp Arg Ile Gly Ser
 GAT CGG AAA GAC CGT TCC GCT GTT CTC GCG TAC ACC GAC CGC ATC GGT TCC

282

20 Glu Ala Tyr Asn Gln Gln Leu Ser Glu Lys Arg Ala Gln Ser Val Val Asp Tyr
 GAA GCT TAC AAC CAG CAG CTG TCT GAG AAA CGT GCT CAG TCC GTC GTT GAC TAC

300

Leu Val Ala Lys Gly Ile Pro Ala Gly Lys Ile Ser Ala Arg Gly Met Gly Glu
 CTG GTT GCT AAA GGC ATC CGG GCT CGC AAA ATC TCC GCT CGC GGC ATG GGT GAA

25 318

Ser Asn Pro Val Thr Gly Asn Thr Cys Asp Asn Val Lys Ala Arg Ala Ala Leu
 TCC AAC CGG GTT ACT GGC AAC ACC TGT GAC AAC GTG AAA GCT CGC GCT GCC CTG

336

Ile Asp Cys Leu Ala Pro Asp Arg Arg Val Glu Ile Glu Val Lys Gly Tyr Lys
 30 ATC GAT TCC CTG GCT CGG GAT CGT CGT GTA GAG ATC GAA GTT AAA GGC TAC AAA

344

Glu Val Val Thr Gln Pro Gln Ala
 GAA GTT GTA ACT CAG CCT CAG GCT

35 Information pour la SEQ ID N° : 2 G2A

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 101 acides aminés, 303 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

5 130

N - Thr Val Lys Thr Lys Asn Thr Thr Thr Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys
5' - ACC GIG AAA ACC AAA AAC ACC ACG ACC ACC CAG CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA

150

Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe
10 CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GIG TIC AAC TIC

171 173 176 182 186

Val Pro Cys Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys Arg Ile Pro Asn
GIG CCG TGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA CGT ATC CCG AAC
192

15 Lys Lys Pro Gly Lys Lys Thr Thr Lys Pro Thr Lys Lys Pro Thr Phe Lys Thr Thr Lys
AAA AAA CCG GGC AAA AAA ACC ACC AAA CCG ACC AAA AAA CCG ACC TIC AAA ACC ACC ACC AAA

213

Lys Asp His Lys Pro Gln Thr Thr Lys Pro Lys Glu Val Pro Thr Thr Lys Pro - C
AAA GAT CAT AAA CCG CAG ACC ACC AAA CCG AAA GAA GIG CCG ACC ACC AAA CCG - 3'

20

Information pour la SEQ ID N° : 3 G2B

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 101 acides aminés, 303 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

25 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

130

N - Thr Ala Gln Thr Lys Gly Arg Ile Thr Thr Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys
5' - ACC GCG CAG ACC AAA GGC CGT ATC ACC ACC AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA

30 150

Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe
AGC CGT AGC AAA AAC CCG CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TIC AAC TIC

171 173 176 182 186

Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys Thr Ile Pro Ser

GIG CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA ACC ATC CGG ACC
192

Asn Lys Pro Lys Lys Lys Pro Thr Ile Lys Pro Thr Asn Lys Pro Thr Thr Lys Thr Thr Asn
AAC AAA CGG AAA AAG AAA CGG ACC ATC AAA CGG ACC AAC AAA CGG ACC ACC AAA ACC ACC AAC

5 213

230

Lys Arg Asp Pro Lys Thr Pro Ala Lys Met Pro Lys Glu Ile Ile Thr Asn - C
AAA CGT CAT CGG AAA ACC CGG AAA ATG CGG AAG AAG GAA ATC ATC ACC AAC - 3'

Information pour la SEQ ID NO : 4 G2AδCys

10 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 101 acides aminés, 303 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

15 130

N - Thr Val Lys Thr Lys Asn Thr Thr Thr Thr Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys
5' - ACC GIG AAA ACC AAA AAC ACC ACC ACC ACC CAG ACC CAG CGG ACC AAA CGG ACC ACC ACC AAA
150

Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe
20 CAG CGT CAG AAC AAA CGG CGG AAC AAA CGG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GIG TTC AAC TTC

171 173 176 182 186

Val Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro Asn
GIG CGG AGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CGG ACC TGC TGG CGG ATC AGC AAA CGT ATC CGG AAC
192

25 Lys Lys Pro Gly Lys Lys Thr Thr Thr Lys Pro Thr Lys Lys Pro Thr Phe Lys Thr Thr Lys
AAA AAA CGG GGC AAA AAA ACC ACC ACC AAA CGG ACC AAA AAA CGG ACC TTC AAA ACC ACC ACC AAA
213 230

Lys Asp His Lys Pro Gln Thr Thr Lys Pro Lys Glu Val Pro Thr Thr Lys Pro - C

AAA GAT CAT AAA CGG CAG ACC ACC AAA CGG AAA GAA GIG CGG ACC ACC AAA CGG - 3'

30

Information pour la SEQ ID NO : 5 G2BδCys

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 101 acides aminés, 303 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

130

N - Thr Ala Gln Thr Lys Gly Arg Ile Thr Thr Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys

5' - ACC GCG CAG ACC AAA GGC CGT ATC ACC ACC AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA

150

Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe
AGC CGT AGC AAA AAC CTC CGG AAA AAA CTC AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TIC AAC TTC

171 **173** **176** **182** **186**

Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asp Gln Ieu Cys Iys Ser Ile Ser

10 Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys Thr Ile Pro Ser
GIG CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA ACC ACC ATC CCG AGC

192

Asn Lys Pro Iys Iys Iys Pro Thr Ile Lys Pro Thr Asn Lys Pro Thr Thr Lys Thr Thr Asn
AAC AAA CGG AAA AAG AAA CGG ACC ATC AAA CGG ACC AAC AAA CGG ACC ACC AAA ACC ACC AAC

Lys Arg Asp Pro Lys Thr Pro Ala Lys Met Pro Lys Lys Glu Ile Ile Thr Asn - C
AAA CGT GAT CGG AAA ACC CGG GCG AAA ATG CGG AAG AAG GAA ATC ATC ACC AAC - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 6 G1ACys

20 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés, 42 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : peptide

25 **174** **176** **182** **186** **187**

N - Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys - C

5' - AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 7 G1BCys

30 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés, 42 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : peptide

174 176

182

186 187

N - Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys - C
 5' - AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA - 3'

5 Information pour la SEQ ID NO : 8 G1A

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés, 42 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

10 TYPE DE MOLECULE : peptide

174 176

182

186 187

N - Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys - C
 5' - AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGG CGG ATC AGC AAA - 3'

15 Information pour la SEQ ID NO : 9 G1B

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés, 42 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

20 TYPE DE MOLECULE : peptide

174 176

182

186 187

N - Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys - C
 5' - AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA - 3'

25 Information pour la SEQ ID NO : 10 G1'A

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

30 TYPE DE MOLECULE : peptide

174 176

182

186 187

N - Ser Ile Asp Ser Asn Asn Pro Thr Orn Trp Ala Ile Cys Lys - C

Information pour la SEQ ID NO : 11 G1'B

35 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés

NOMBRE DE BRINS : simple
 CONFIGURATION : linéaire
 TYPE DE MOLECULE : peptide

174 176 182 186 187

5 N - Ser Ile Asp Gly Asn Asn Gln Leu Orn Lys Ser Ile Cys Lys - C

Information pour la SEQ ID N° : 12 G1'AδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés
 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés

10 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire
 TYPE DE MOLECULE : peptide

174 176 182 186 187

N - Ser Ile Asp Ser Asn Asn Pro Thr Orn Trp Ala Ile Ser Lys - C

15

Information pour la SEQ ID N° : 13 G1'BδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés
 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés

NOMBRE DE BRINS : simple

20 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : peptide

174 176 182 186 187

N - Ser Ile Asp Gly Asn Asn Gln Leu Orn Lys Ser Ile Ser Lys - C

25 **Information pour la SEQ ID N° : 14 G2AδCF**

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 101 acides aminés, 303 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

30 TYPE DE MOLECULE : protéine

130

N - Thr Val Lys Thr Lys Asn Thr Thr Thr Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys
 5' - ACC GTG AAA ACC AAA AAC ACC ACC ACC CAG ACC CAG CGG AGC AAA CCG ACC ACC AAA

150	163	165	168	170
Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Ser His Ser Glu Val Ser Asn Ser				
CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TCC CAT TCC GAA GTG TCC AAC TCC				
171 173 176	182	186		
5 Val Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro Asn				
GIG CCG AGC AGC ATC TGC AGC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA CGT ATC CCG AAC				
192				
Lys Lys Pro Gly Lys Lys Thr Thr Lys Pro Thr Lys Lys Pro Thr Phe Lys Thr Thr Lys				
AAA AAA CCG GGC AAA AAA ACC AGC ACC AAA CCG ACC AAA AAA CCG ACC ACC TTC AAA ACC ACC AAA				
10 213			230	
Lys Asp His Lys Pro Gln Thr Lys Pro Lys Glu Val Pro Thr Thr Lys Pro - C				
AAA GAT CAT AAA CCG CAG ACC ACC AAA CCG AAA GAA GTG CCG ACC ACC AAA CCG - 3'				

Information pour la SEQ ID NO : 15 G4A

15 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides
 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 17 acides aminés, 42 nucléotides
 NOMBRE DE BRINS : simple
 CONFIGURATION : linéaire
 TYPE DE MOLECULE : peptide

20 171 173 176	182	186 187		
N - Val Pro Cys Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys - C				
5' - GTG CCG TGC AGC ATC TGC AGC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA - 3'				

Information pour la SEQ ID NO : 16 G4AδC

25 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides
 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 17 acides aminés, 42 nucléotides
 NOMBRE DE BRINS : simple
 CONFIGURATION : linéaire
 TYPE DE MOLECULE : peptide

30 171 173 176	182	186 187		
N - Val Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys - C				
5' - GTG CCG AGC AGC ATC TGC AGC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA - 3'				

Information pour la SEQ ID N° : 17 G4B

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 17 acides aminés, 42 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

5 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : peptide

171	173	176	182	186	187
-----	-----	-----	-----	-----	-----

N - Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys - C

5' -GTG CCC TGC AGC ATC TGC CGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA - 3'

10

Information pour la SEQ ID N° : 18 G4BδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 17 acides aminés, 42 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

15 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : peptide

171	173	176	182	186	187
-----	-----	-----	-----	-----	-----

N - Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys - C

5' -GTG CCC AGC AGC ATC TGC CGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA - 3'

20

Information pour la SEQ ID N° : 19 G4'A

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 17 acides aminés

25 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : peptide

171	173	176	182	186	187
-----	-----	-----	-----	-----	-----

N - Val Pro Asp Ser Ile Asp Ser Asn Asn Pro Thr Orn Trp Ala Ile Orn Lys - C

30

Information pour la SEQ ID N° : 20 G4'AδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 17 acides aminés

NOMBRE DE BRINS : simple

35 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : peptide

196 200

Lys Lys Thr Thr Thr - C
 AAA AAA ACC ACG ACC - 3'

5 Information pour la SEQ ID N° : 24 G198A

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 59 acides aminés, 177 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

10 TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn
 5' - CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC
 158 173 176

15 Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys
 AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCG TGC AGC ATC TGC

177 182 186

Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly
 AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC

20 196 198

Lys Lys Thr - C
 AAA AAA ACC - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 25 G196A

25 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 57 acides aminés, 171 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

30 140

N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn
 5' - CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC
 158 173 176

35 Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys
 AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCG TGC AGC ATC TGC

177 182 186
 Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly
 AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC
 196

5 Lys - C
 AAA - 3'

Information pour la SEQ ID NO : 26 G194A

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

10 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 55 acides aminés, 165 nucléotides
 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

15 N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn
 5' - CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC
 158 173 176

Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys
 AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCG TGC AGC ATC TGC

20 177 182 186 194
 Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro - C
 AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG - 3'

Information pour la SEQ ID NO : 27 G192A

25 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 52 acides aminés, 156 nucléotides
 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

30 140

N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn
 5' - CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC
 158 173 176

Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys

35 AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCG TGC AGC ATC TGC

177 182 186 192
 Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys Arg Ile Pro Asn Lys - C
 AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA - 3'

5 Information pour la SEQ ID N° : 28 G6A

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides
 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 51 acides aminés, 153 nucléotides
 NOMBRE DE BRINS : simple
 CONFIGURATION : linéaire

10 TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn
 5' - CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC
 158 173 176

15 Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys
 AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG TGC AGC ATC TGC

177

182

186

190

Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys Arg Ile Pro - C
 AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA CGT ATC CCG - 3'

20

Information pour la SEQ ID N° : 29 G7A

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides
 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 33 acides aminés, 99 nucléotides
 NOMBRE DE BRINS : simple

25 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

158

173

N - Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile
 5' - AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG TGC AGC ATC

30 176

182

186

190

Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys Arg Ile Pro - C
 TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA CGT ATC CCG - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 30 G200AδC

35 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 61 acides aminés, 183 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple
 CONFIGURATION : linéaire
 TYPE DE MOLECULE : protéine

140

5 N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn
 5' - CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC
 158 173 176
 Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys
 AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG AGC AGC ATC TGC
 10 177 182 186
 Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly
 AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG CGG ATC AGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC
 196 200
 Lys Lys Thr Thr Thr - C
 15 AAA AAA ACC ACG ACC - 3'

Information pour la SEQ ID NO : 31 G198AδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides
 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 59 acides aminés, 177 nucléotides

20 NOMBRE DE BRINS : simple
 CONFIGURATION : linéaire
 TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn
 25 5' - CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC
 158 173 176
 Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys
 AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG AGC AGC ATC TGC
 177 182 186
 30 Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly
 AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG CGG ATC AGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC
 196 198
 Lys Lys Thr - C
 AAA AAA ACC - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 32 G196AδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 57 acides aminés, 171 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

5 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn

5'- CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC

10 158 173 176

Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys
AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG AGC AGC ATC TGC

177 182 186

Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro Asn Lys Pro Gly

15 AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA CCG CCG

196

Lys - C

AAA - 3'

20 Information pour la SEQ ID N° : 33 G194AδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 55 acides aminés, 165 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

25 TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn

5'- CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC

158 173 176

30 Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys

AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG AGC AGC ATC TGC

177 182 186 194

Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro Asn Lys Pro - C
AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 34 G192AδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 52 acides aminés, 156 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

5 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn

5' - CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC

10 158 173 176

Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys

AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG AGC AGC ATC TGC

177 182 186 192

Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro Asn Lys - C

15 AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 35 G6AδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 50 acides aminés, 150 nucléotides

20 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn

25 5' - CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC

158 173 176

Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys

AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG AGC AGC ATC TGC

177 182 186 190

30 Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro - C

AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA CGT ATC CCG - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 36 G7AδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

35 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 33 acides aminés, 99 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple
 CONFIGURATION : linéaire
 TYPE DE MOLECULE : protéine

158

173

5 N - Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile
 5' - AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG AGC AGC ATC
 176 182 186 190
 Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro - C
 TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA CGT ATC CCG - 3'

10

Information pour la SEQ ID N0 : 37 G200B

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 61 acides aminés, 183 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

15 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Lys Pro
 5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG CCG AAA ACG
 20 160 173 176
 Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln
 AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG
 182 186 200
 Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys Pro Thr Ile- C
 25 CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG AAA AAG AAA CCG ACC ATC- 3'

Information pour la SEQ ID N0 : 38 G198B

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 59 acides aminés, 177 nucléotides

30 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

35 N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Lys Pro

5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CGG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CGG CGG AAA AAA CGG

160

173

176

Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln
AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG

5

182

186

198

Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys Lys Pro - C
CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA ACC ATC CGG AGC AAC AAA CGG AAA AAG AAA CGG - 3'

Information pour la SEQ ID NO : 39 G196B

10 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 57 acides aminés, 171 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

15 140

N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Pro

5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CGG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CGG CGG AAA AAA CGG

160

173

176

Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln

20 AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG

182

186

196

Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys - C

CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA ACC ATC CGG AGC AAC AAA CGG AAA AAG - 3'

25 Information pour la SEQ ID NO : 40 G194B

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 55 acides aminés, 165 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

30 TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Pro

5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CGG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CGG CGG AAA AAA CGG

160

173

176

Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln
 AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG

182 186 194

Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro - C

5 CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA ACC ATC CGG AGC AAC AAA CGG - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 41 G192B

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 53 acides aminés, 159 nucléotides

10 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Pro

15 5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CGG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CGG CGG AAA AAA CGG

160 173 176

Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln

AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG

182 186 192

20 Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys Thr Ile Pro Ser Asn - C

CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA ACC ATC CGG AGC AAC - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 42 G6B

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

25 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 51 acides aminés, 153 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Pro

30 5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CGG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CGG CGG AAA AAA CGG

160 173 176

Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln

AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG

182 186 190
 Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys Thr Ile Pro - C
 CIG TGC AAA AGC ATC TGC AAA ACC ATC CGG - 3'

5 Information pour la SEQ ID N° : 43 G7B

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides
 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 33 acides aminés, 99 nucléotides
 NOMBRE DE BRINS : simple
 CONFIGURATION : linéaire

10 TYPE DE MOLECULE : protéine

158 173 176
 N - Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly
 5' - AAA CGG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TIC AAC TTC GIG CCC TGC AGC ATC TGC GGC

182 186 190
 15 Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys Thr Ile Pro - C
 AAC AAC CAG CIG TGC AAA AGC ATC TGC AAA ACC ATC CGG - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 44 G200Bdc

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides
 20 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 61 acides aminés, 183 nucléotides
 NOMBRE DE BRINS : simple
 CONFIGURATION : linéaire
 TYPE DE MOLECULE : protéine

140
 25 N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Lys Pro
 5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CGG AGC ACC AAA ACC CGT AGC AAA AAC CGG CGG AAA AAA CGG
 160 173 176

Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln
 AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG

30 182 186 200
 Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys Pro Thr Ile- C
 CIG TGC AAA AGC ATC AGC AAA ACC ATC CGG AGC AAC AAA CGG AAA AAG AAA CGG ACC ATC- 3'

Information pour la SEQ ID N° : 45 G198BδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 59 acides aminés, 177 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

5 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Lys Pro
5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG CCG AAA AAA CCG

10 160 173 176

Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln
AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG
182 186 198

15 Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys Lys Pro - C
CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG AAA AAG AAA CCG - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 46 G196BδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 57 acides aminés, 171 nucléotides

20 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Lys Pro
5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG CCG AAA AAA CCG

25 160 173 176

Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln
AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG
182 186 196

30 Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys - C
CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG AAA AAG - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 47 G194BδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

35 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 55 acides aminés, 165 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Lys Pro
5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG CCG AAA AAA CCG

5 160 173 176

Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln
AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG

182 186 194

Ieu Cys Lys Ser Ile Ser Lys Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro - C

10 CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 48 G192BδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 53 acides aminés, 159 nucléotides

15 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Lys Pro

20 5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG CCG AAA AAA CCG

160 173 176

Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln

AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG

182 186 192

25 Ieu Cys Lys Ser Ile Ser Lys Thr Ile Pro Ser Asn - C

CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA ACC ATC CCG AGC AAC - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 49 G6BδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

30 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 51 acides aminés, 153 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Iys Pro
 5' - AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG CCG AAA AAA CCG

160

173

176

5 Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln
 AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG

182

186

190

Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys Thr Ile Pro - C

CIG TGC AAA AGC ATC AGC AAA ACC ATC CCG - 3'

10 Information pour la SEQ ID N° : 50 G7BδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 33 acides aminés, 99 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

15 TYPE DE MOLECULE : protéine

158

173

176

N - Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly

5' - AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GIG TTC AAC TTC GIG CCC AGC AGC ATC TGC GGC

182

186

190

20 Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys Thr Ile Pro - C

AAC AAC CAG CIG TGC AAA AGC ATC AGC AAA ACC ATC CCG - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 51 G2V

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

25 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 101 acides aminés, 303 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

130

30 N - Gln Asn Arg Lys Ile Lys Gly Gln Ser Thr Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn

5' - CAA AAC AGA AAA ATC AAA GGT CAA TCA ACA CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT

150

Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr

CCA TCA CGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT

171 173 176

182

186

Val Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His Ile Glu Thr Glu
 GTT CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT ATT GAG ACG GAA
 192

5 Arg Ala Pro Ser Arg Ala Pro Thr Ile Thr Leu Lys Lys Thr Pro Lys Pro Lys Thr Thr Lys
 AGA GCA CCA AGC AGA GCA CCA ACA ATC ACC CTC AAA AAG ACA CCA AAA CCA AAA ACC ACA AAA
 213

230

Lys Pro Thr Lys Thr Thr Ile His His Arg Thr Ser Pro Glu Thr Lys Leu Gln - C
 AAG CCA ACC AAG ACA ACA ATC CAT CAC AGA ACC ACC CCA GAA ACC AAA CTG CAA - 3'

10

Information pour la SEQ ID NO : 52 G2V6C

TYPE DE SÉQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 101 acides aminés, 303 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

15 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

130

N - Gln Asn Arg Lys Ile Lys Gly Gln Ser Thr Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn
 5' - CAA AAC ACA AAA ATC AAA GGT CAA TCA ACA CTA CCA GCC ACA ACA AAA CCA CCA ATT ATT

20 150

Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr
 CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT

171 173 176

182

186

Val Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His Ile Glu Thr Glu
 25 GTT CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT ATT GAG ACG GAA
 192

Arg Ala Pro Ser Arg Ala Pro Thr Ile Thr Leu Lys Lys Thr Pro Lys Pro Lys Thr Thr Lys
 AGA GCA CCA AGC AGA GCA CCA ACA ATC ACC CTC AAA AAG ACA CCA AAA CCA AAA ACC ACA AAA

213

230

30 Lys Pro Thr Lys Thr Thr Ile His His Arg Thr Ser Pro Glu Thr Lys Leu Gln - C
 AAG CCA ACC AAG ACA ACA ATC CAT CAC AGA ACC ACC CCA GAA ACC AAA CTG CAA - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 53 G200V

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 61 acides aminés, 183 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

5 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His

5' - CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

10 160 173 176

Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu

CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CCT

182 186 200

Ala Cys Leu Ser Leu Cys His Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg Ala Pro Thr Ile - C

15 GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT ATT GAG ACG GAA AGA GCA CCA AGC AGA GCA CCA ACA ATC - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 54 G198V

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 59 acides aminés, 177 nucléotides

20 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His

25 5' - CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

160 173 176

Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu

CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CCT

182 186 198

30 Ala Cys Leu Ser Leu Cys His Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg Ala Pro - C

GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT ATT GAG ACG GAA AGA GCA CCA AGC AGA GCA CCA - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 55 G196V

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 57 acides aminés, 171 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

5 140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His

5' - CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

160 173 176

Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu

10 CAA GAC CAC AAC AAC TIC CAA ACA CTC CCC TAT GIT CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT

182 186 196

Ala Cys Leu Ser Leu Cys His Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg - C

GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT ATT GAG AGC GAA AGA GCA CCA AGC AGA - 3'

15. Information pour la SEQ ID NO : 56 G194V

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 55 acides aminés, 165 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

20 TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His

5' - CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

160 173 176

Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu

CAA GAC CAC AAC AAC TIC CAA ACA CTC CCC TAT GIT CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT

182 186 194

Ala Cys Leu Ser Leu Cys His Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro - C

GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT ATT GAG AGC GAA AGA GCA CCA - 3'

30

Information pour la SEQ ID NO : 57 G192V

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 52 acides aminés, 156 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His

5 5'- CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

160

173

176

Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu

CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CCT

182

186

192

10 Ala Cys Leu Ser Leu Cys His Ile Glu Thr Glu Arg - C

GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT ATT GAG AGG GAA AGA - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 58 G6V

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 51 acides aminés, 153 nucléotides

15 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His

20 5'- CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

160

173

176

Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu

CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CCT

182

186

190

25 Ala Cys Leu Ser Leu Cys His Ile Glu Thr - C

GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT ATT GAG AGG - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 59 G7V

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

30 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 33 acides aminés, 99 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

158

173

176

N - Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Cys Ser Thr Cys
 5' - AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC TGC AGT ACA TGT

182

186

190

5 Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His Ile Glu Thr - C
 GAA GGT AAT CCT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT ATT GAG AGG - 3'

Information pour la SEQ ID NO : 60 G200VδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

10 LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 61 acides aminés, 183 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

15 N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His

5' - CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

160

173

176

Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu
 CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CCT

20 182 186 200

Ala Cys Leu Ser Ile Ser His Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg Ala Pro Thr Ile - C
 GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT ATT GAG AGC GAA AGA CCA CCA AGC AGA GCA CCA ACA ATC - 3'

Information pour la SEQ ID NO : 61 G198VδC

25 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 59 acides aminés, 177 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

30 140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His

5' - CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

160

173

176

Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu

CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT

182 186

198

Ala Cys Leu Ser Leu Ser His Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg Ala Pro - C

GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT ATT GAG ACC GAA AGA GCA CCA AGC AGA GCA CCA - 3'

5

Information pour la SEQ ID N° : 62 G196VδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 57 acides aminés, 171 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

10 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His

5'- CTA CCA GGC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

15 160 173 176

Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu

CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT

182 186

196

Ala Cys Leu Ser Leu Ser His Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg - C

20 GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT ATT GAG ACC GAA AGA GCA CCA AGC AGA - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 63 G194VδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 55 acides aminés, 165 nucléotides

25 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His

30 5'- CTA CCA GGC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

160 173 176

Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu

CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT

182

186

194

Ala Cys Leu Ser Leu Ser His Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro - C
 GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT ATT GAG AGG GAA AGA CCA CCA - 3'

5 Information pour la SEQ ID N° : 64 G192VδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 52 acides aminés, 156 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

10 TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His
 5' - CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT
 160 173 176

15 Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu
 CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CCT

182

186

192

Ala Cys Leu Ser Leu Ser His Ile Glu Thr Glu Arg - C

GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT ATT GAG AGG GAA AGA - 3'

20

Information pour la SEQ ID N° : 65 G6VδC

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 51 acides aminés, 153 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

25 TYPE DE MOLECULE : protéine

140

N - Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His
 5' - CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT

160

173

176

30 Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu
 CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CCT

182

186

190

Ala Cys Leu Ser Leu Ser His Ile Glu Thr - C

GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT ATT GAG AGG - 3'

Information pour la SEQ ID N0 : 66 G7VδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 33 acides aminés, 99 nucléotides

5 NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : protéine

158 173 176

N - Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Ser Ser Thr Cys

10 5' - AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC AGC AGT ACA TGT

182 186 190

Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His Ile Glu Thr - C

GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT ATT GAG ACG - 3'

15 Information pour la SEQ ID N0 : 67 G4V

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 17 acides aminés, 51 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

20 TYPE DE MOLECULE : peptide

171 173 176 182 186 187

N - Val Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His - C

5' - GTT CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT - 3'

25 Information pour la SEQ ID N0 : 68 G4VδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 17 acides aminés, 51 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

30 TYPE DE MOLECULE : peptide

171 173 176 182 186 187

N - Val Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His - C

5' - GTT CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 69 G4'V

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 17 acides aminés

NOMBRE DE BRINS : simple

5 CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : peptide

171 173 176 182 186 187

N - Val Pro Asp Ser Thr Asp Glu Gly Asn Leu Ala Om Leu Ser Leu Om His - C

10 Information pour la SEQ ID N° : 70 G4'VδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 17 acides aminés

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

15 TYPE DE MOLECULE : peptide

171 173 176 182 186 187

N - Val Pro Ser Ser Thr Asp Glu Gly Asn Leu Ala Om Leu Ser Leu Ser His - C

Information pour la SEQ ID N° : 71 G1V

20 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés, 42 nucléotides

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : peptide

25 174 176 182 186 187

N - Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His - C

5' - AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT - 3'

Information pour la SEQ ID N° : 72 G1VδC

30 TYPE DE SEQUENCE : acides aminés et nucléotides

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

TYPE DE MOLECULE : peptide

174 176

182

186 187

N - Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His - C
5' - AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT - 3'

5 Information pour la SEQ ID N° : 73 G1'VδC

TYPE DE SEQUENCE : acides aminés

LONGUEUR DE LA SEQUENCE : 14 acides aminés

NOMBRE DE BRINS : simple

CONFIGURATION : linéaire

10 TYPE DE MOLECULE : peptide

174 176

182

186 187

N - Ser Thr Asp Glu Gly Asn Leu Ala Orn Leu Ser Leu Ser His - C

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane OmpA d'entérobactérie pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à être administrée par voie nasale pour améliorer l'immunité d'un mammifère vis-à-vis d'un antigène ou d'un haptène.
5
2. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane de Klebsiella pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à être administrée par voie nasale, pour améliorer l'immunité d'un mammifère vis-à-vis d'un antigène ou d'un haptène.
10
3. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon la revendication 2, caractérisée en ce que la protéine de membrane est une OmpA de Klebsiella pneumoniae.
15
4. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ladite protéine de membrane ou son fragment est obtenue par voie recombinante.
20
5. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon la revendication 4, caractérisée en ce que ladite protéine de membrane recombinante ou son fragment est renaturée en présence d'un détergent choisi parmi le Zwittergent 3-14, le Zwittergent 3-12 et l'octylglucopyranoside.
25
6. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce qu'au moins un fragment présente la séquence SEQ ID n° 1.
30
7. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène sont choisis dans le groupe comprenant les protéines, les peptides, les polysaccharides, les oligosaccharides et les acides nucléiques.
35
8. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon l'une des revendications 1 à 7,

caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène provient d'un virus ou d'une bactérie.

9. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon l'une des revendications 1 à 8,
5 caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène comprend au moins un fragment protéique de micro-organisme responsable de pathologies des voies aériennes.

10. Utilisation selon la revendication 9, caractérisée en ce que ledit micro-organisme responsable de pathologies des voies aériennes est choisi parmi le VRS, le para influenza virus (PIV), l'influenza virus, l'hantavirus, les streptocoques, les pneumocoques et les méningocoques.

11. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon l'une des revendications 1 à 10,
15 caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène comprend au moins un fragment protéique du virus respiratoire syncytial (VRS) humain ou bovin.

12. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène comprend au moins
20 un fragment de la protéine G du VRS.

13. Utilisation selon l'une des revendications 11 et 12, caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène comprend au moins l'une des séquences SEQ ID n° 2 à SEQ ID n° 73.

14. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 13,
25 caractérisée en ce que ledit fragment d'une protéine de membrane est couplé de façon covalente avec ledit antigène ou haptène.

15. Utilisation selon la revendication 14, caractérisée en ce qu'il est introduit un ou plusieurs éléments
30 de liaison dans le fragment de protéine membranaire et/ou de l'antigène ou de l'haptène pour faciliter le couplage.

16. Utilisation selon la revendication 15, caractérisée en ce que l'élément de liaison introduit est un acide aminé.

35 17. Utilisation selon la revendication 14, caractérisée en ce que la protéine hybride, obtenue après couplage entre le fragment d'une protéine de membrane et

l'antigène ou l'haptène, lorsque ledit antigène ou haptène est de type protéique, est préparée par recombinaison génétique.

18. Utilisation selon l'une des revendications 14 à 5 17, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique contient un fragment d'une protéine de membrane couplé avec un antigène ou un haptène.

19. Utilisation selon la revendication 17, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique contient 10 une cellule hôte transformée capable d'exprimer une protéine hybride contenant ledit fragment de protéine de membrane couplé avec ledit antigène ou haptène.

20. Utilisation selon l'une des revendications 18 et 15 19, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique ne contient pas d'adjuvant.

21. Procédé de préparation d'une protéine ou un de ses fragments par voie recombinante, caractérisé en ce que ladite protéine ou un de ses fragments est, après extraction, renaturée en présence d'une solution comprenant 20 un détergent choisi parmi le Zwittergent 3-14, le Zwittergent 3-12 et l'octylglucopyranoside, et en ce que ladite protéine recombinante n'est pas l'interféron β .

25

ORIGINAL



REVENDICATIONS

1. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane OmpA d'entérobactérie pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à être administrée par voie nasale pour améliorer l'immunité d'un mammifère vis-à-vis d'un antigène ou d'un haptène.
5
2. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane de Klebsiella pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à être administrée par voie nasale, pour améliorer l'immunité d'un mammifère vis-à-vis d'un antigène ou d'un haptène.
10
3. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon la revendication 2, caractérisée en ce que la protéine de membrane est une OmpA de Klebsiella pneumoniae.
15
4. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ladite protéine de membrane ou son fragment est obtenue par voie recombinante.
20
5. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon la revendication 4, caractérisée en ce que ladite protéine de membrane recombinante ou son fragment est renaturée en présence de détergent choisi parmi le Zwittergent 3-14, le Zwittergent 3-12 et l'octylglucopyranoside.
25
6. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce qu'au moins un fragment présente la séquence SEQ ID n° 1.
30
7. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène sont choisis dans le groupe comprenant les protéines, les peptides, les polysaccharides, les oligosaccharides et les acides nucléiques.
35
8. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon l'une des revendications 1 à 7,

caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène provient d'un virus ou d'une bactérie.

9. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène comprend au moins un fragment protéique de micro-organisme responsable de pathologies des voies aériennes.

10. Utilisation selon la revendication 9, caractérisée en ce que ledit micro-organisme responsable de pathologies des voies aériennes est choisi parmi le VRS, le para influenza virus (PIV), l'influenza virus, l'hantavirus, les streptocoques, les pneumocoques et les méningocoques.

11. Utilisation d'au moins un fragment d'une protéine de membrane selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène comprend au moins un fragment protéique du virus respiratoire syncytial (VRS) humain ou bovin.

12. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène comprend au moins un fragment de la protéine G du VRS.

13. Utilisation selon l'une des revendications 11 et 12, caractérisée en ce que l'antigène ou l'haptène comprend au moins l'une des séquences SEQ ID n° 2 à SEQ ID n° 73.

14. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisée en ce que ledit fragment d'une protéine de membrane est couplé de façon covalente avec ledit antigène ou haptène.

15. Utilisation selon la revendication 14, caractérisée en ce qu'il est introduit un ou plusieurs éléments de liaison dans le fragment de protéine membranaire et/ou de l'antigène ou de l'haptène pour faciliter le couplage.

16. Utilisation selon la revendication 15, caractérisée en ce que l'élément de liaison introduit est un acide aminé.

17. Utilisation selon la revendication 14, caractérisée en ce que la protéine hybride, obtenue après couplage entre le fragment d'une protéine de membrane et

l'antigène ou l'haptène, lorsque ledit antigène ou haptène est de type protéique, est préparée par recombinaison génétique.

18. Utilisation selon l'une des revendications 14 à 5 17, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique contient un fragment d'une protéine de membrane couplé avec un antigène ou un haptène.

19. Utilisation selon la revendication 17, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique contient 10 une cellule hôte transformée capable d'exprimer une protéine hybride contenant ledit fragment de protéine de membrane couplé avec ledit antigène ou haptène.

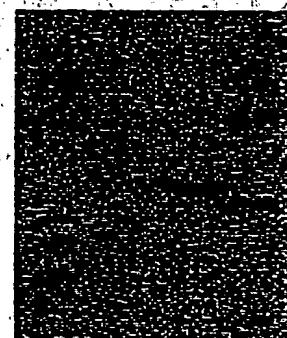
20. Utilisation selon l'une des revendications 18 et 15 19, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique ne contient pas d'adjuvant.

1/10

A



B



Std 1 2

FIG. 1

CABINET REGIMBEAU
ORIGINAL

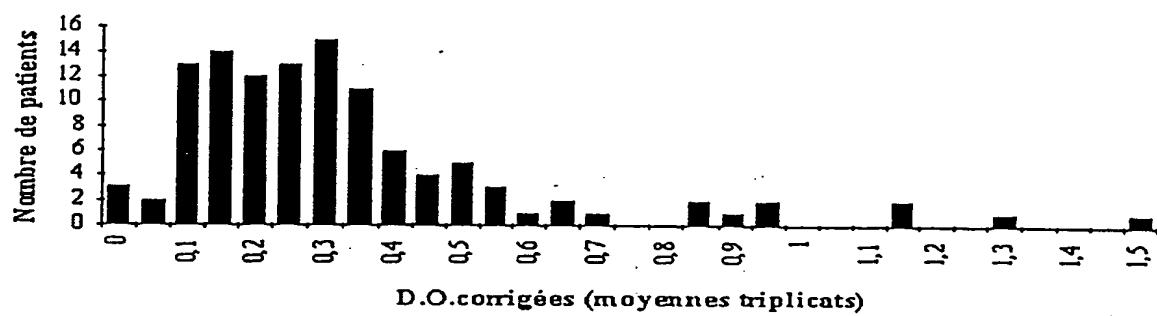


FIG. 2

CABINET REGIMBEAU
ORIGINAL

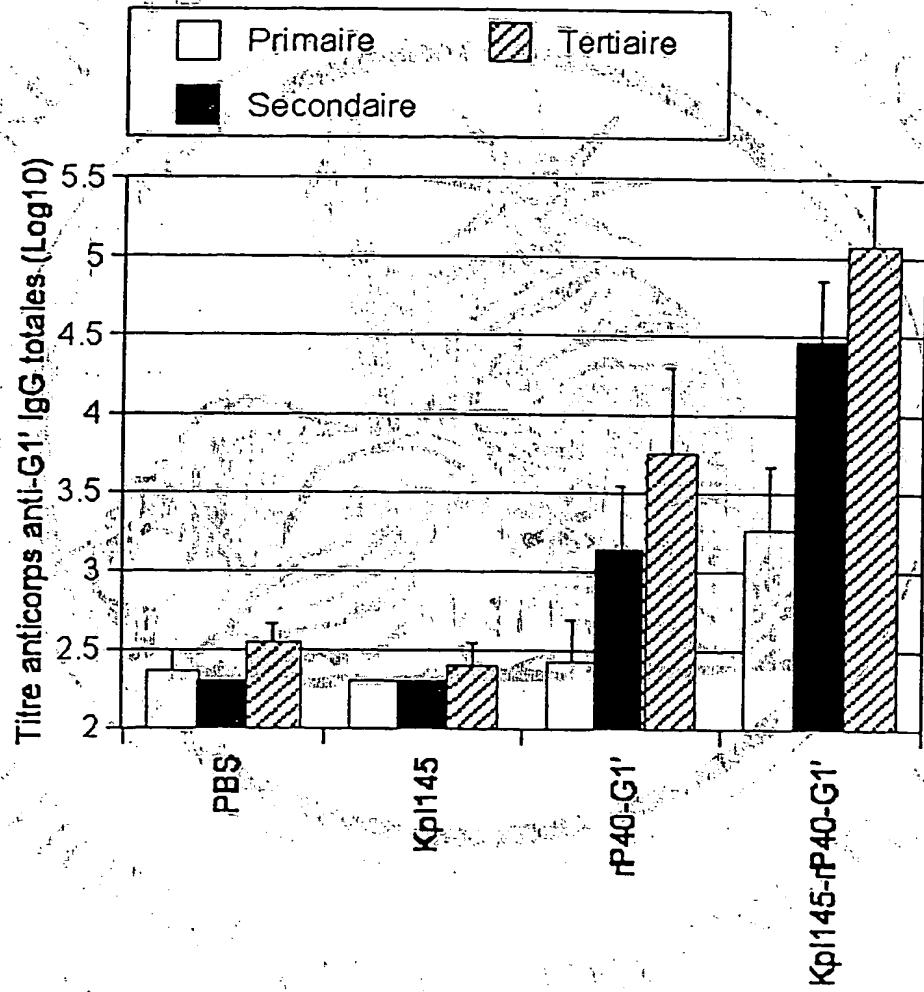


FIG. 3

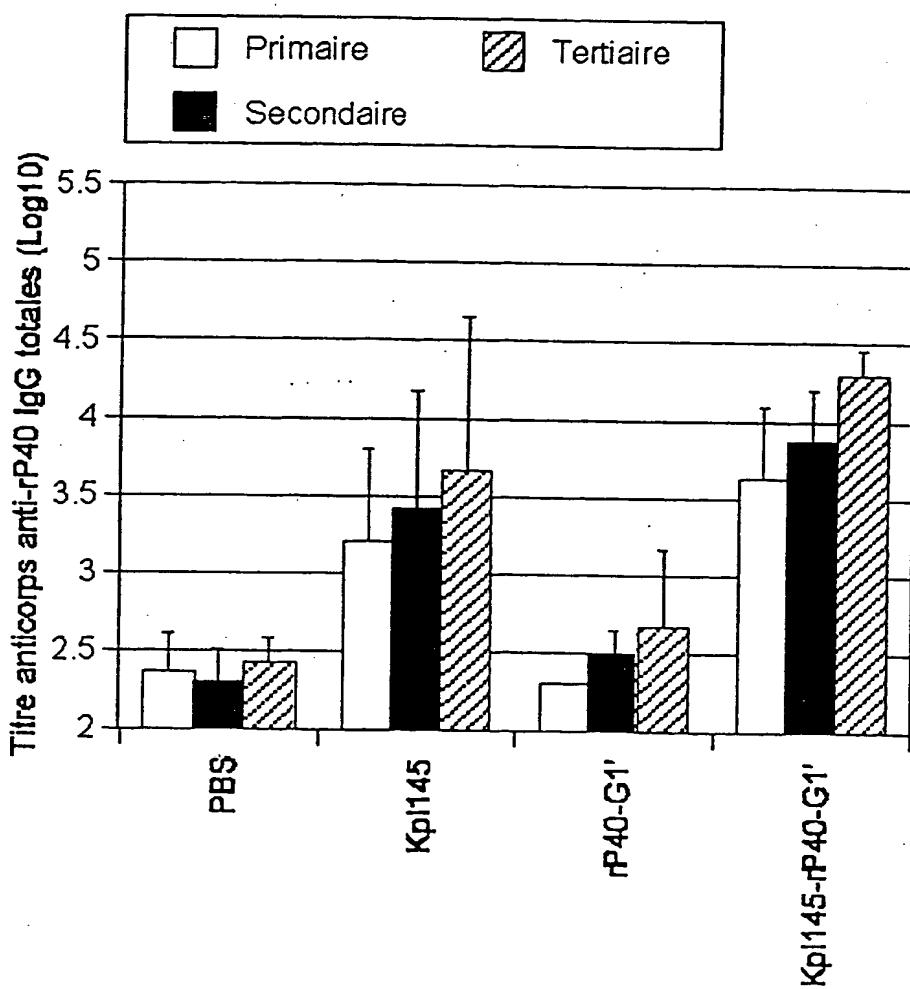


FIG. 4

CABINET REGIMBEAU

ORIGINAL

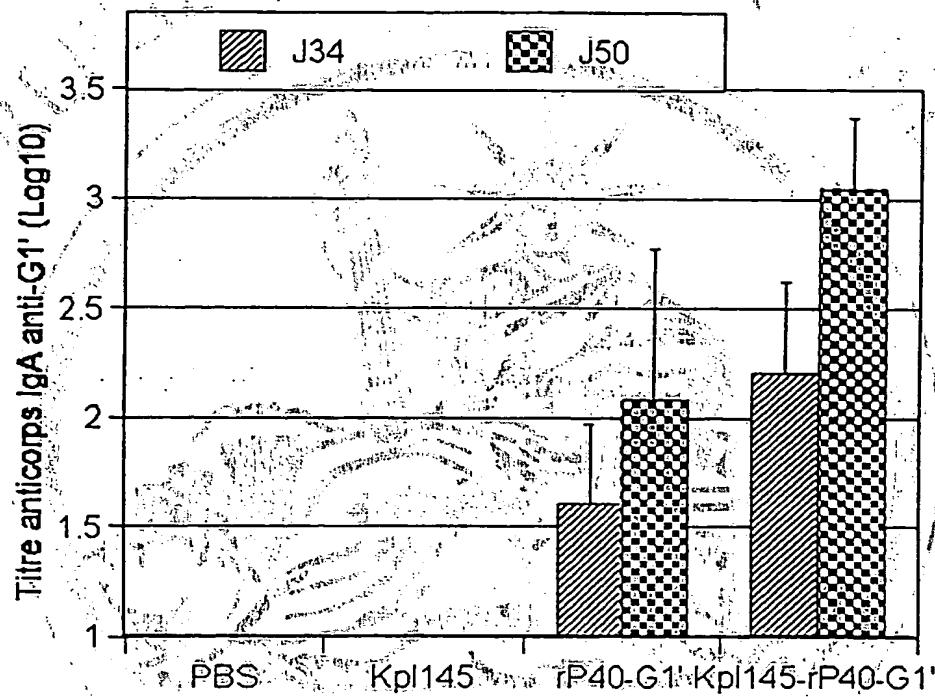


FIG. 5

CABINET REGIMBEAU

ORIGINAL

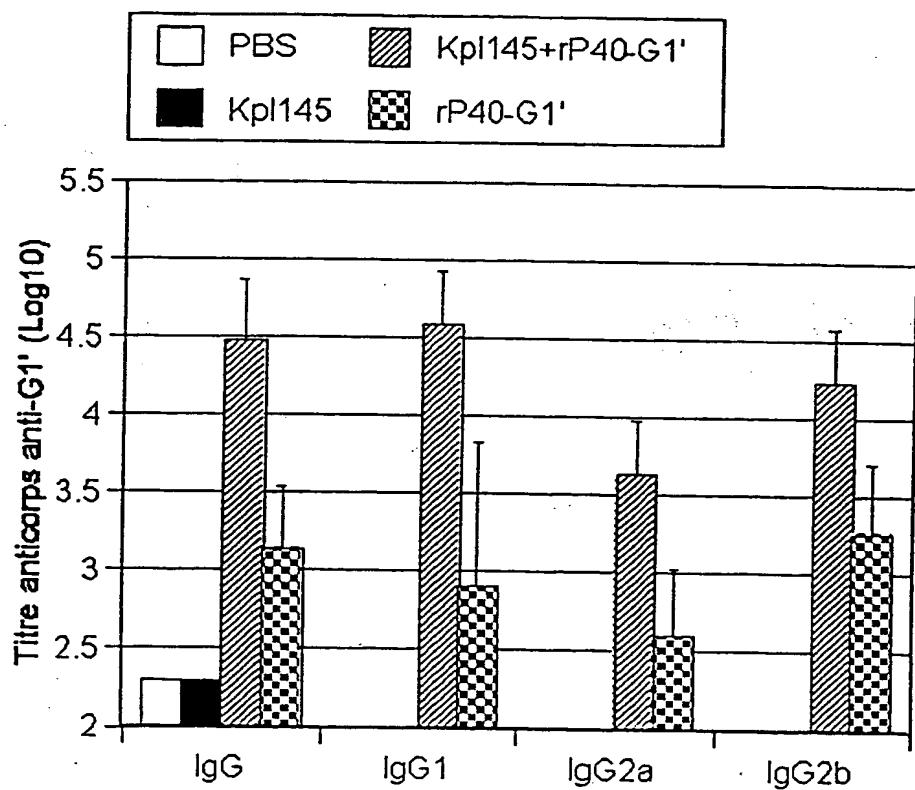


FIG. 6

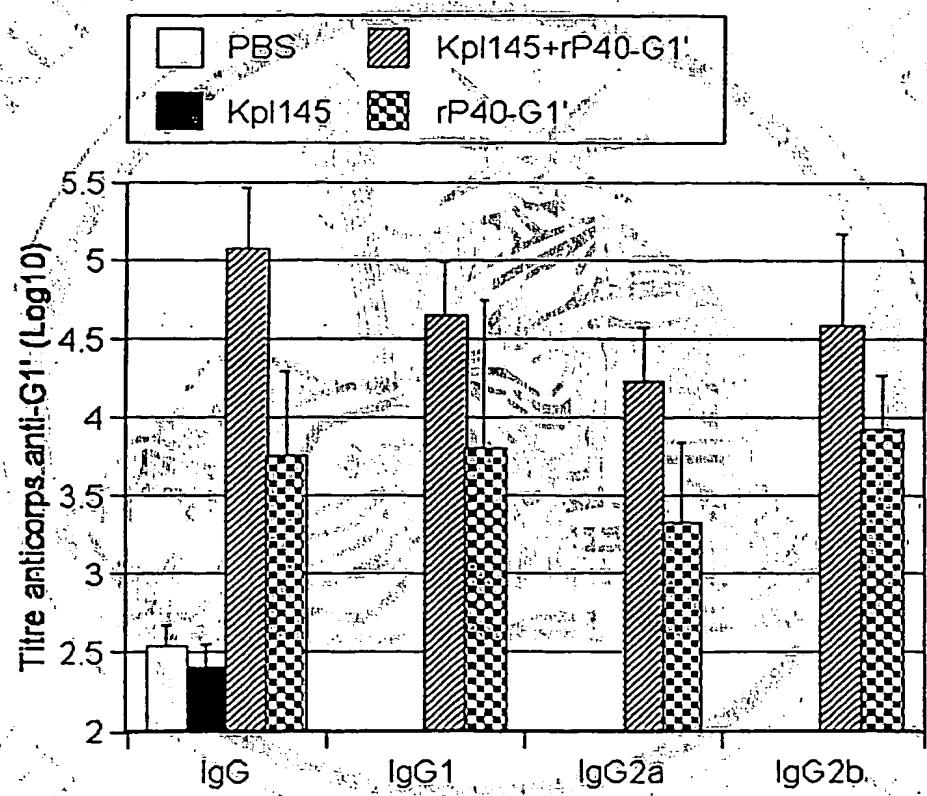


FIG. 7

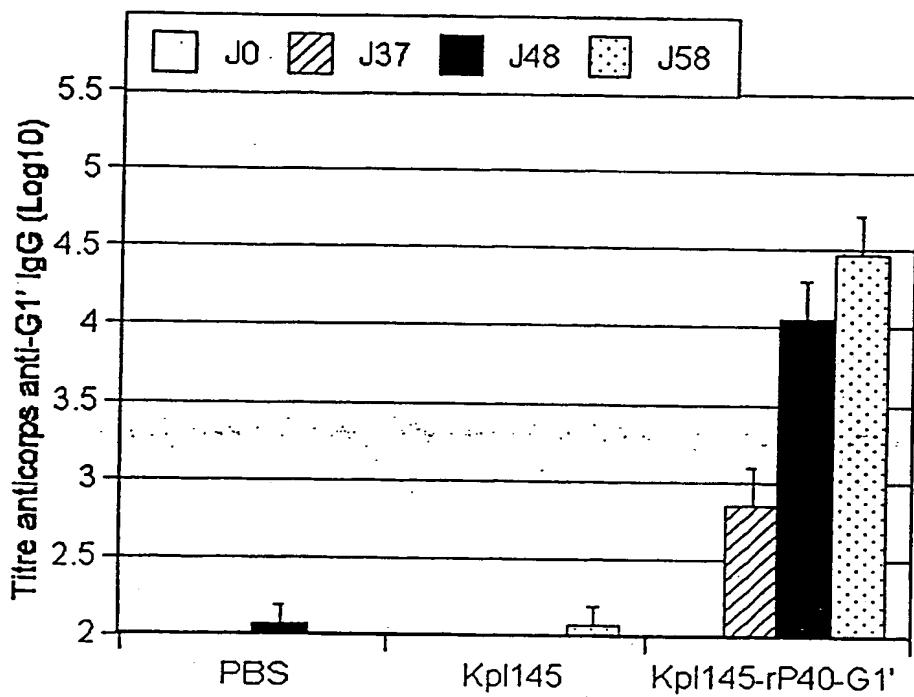


FIG. 8

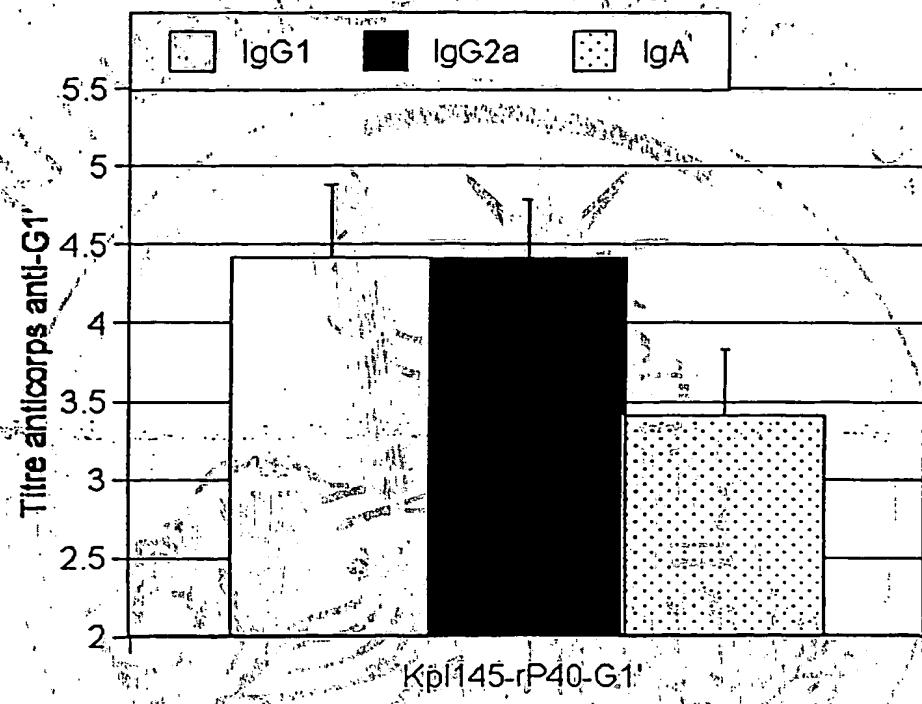


FIG. 9

10/10

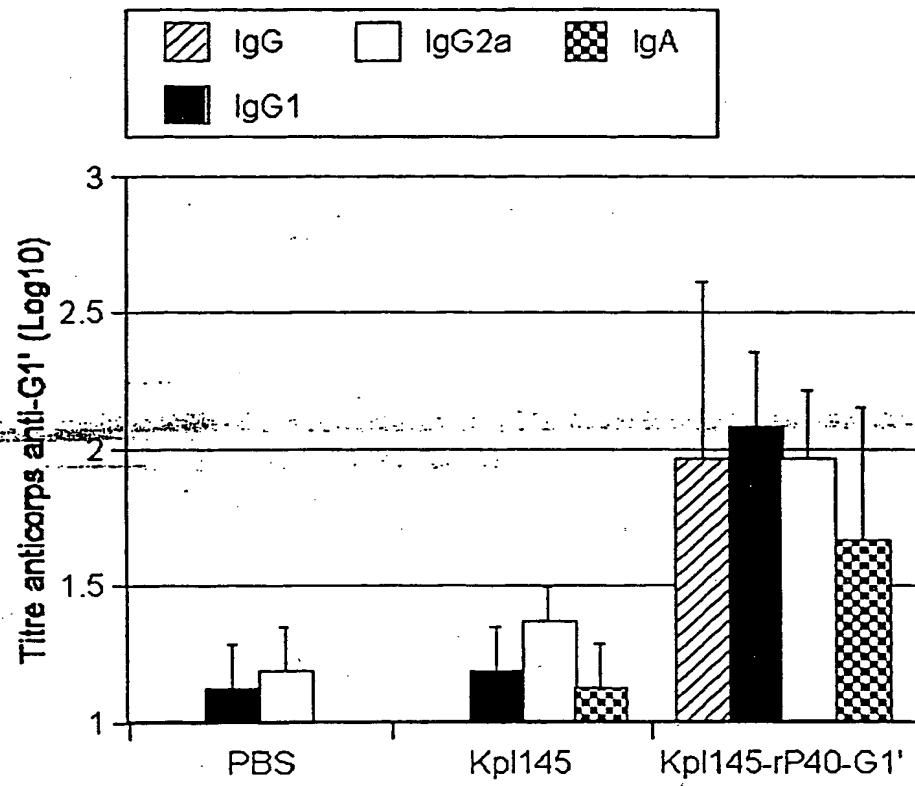


FIG. 10